



TITLE:

スピラベル法による霊長類赤血球膜構造の研究(III 共同利用研究 2.研究成果)

AUTHOR(S):

吉田, 政幸; 渡部, 徳子; 中山, 伸一

CITATION:

吉田, 政幸 ...[et al]. スピラベル法による霊長類赤血球膜構造の研究(III 共同利用研究 2.研究成果). 霊長類研究所年報 1981, 11: 46-47

ISSUE DATE:

1981-12-10

URL:

<http://hdl.handle.net/2433/162975>

RIGHT:

ールアルデヒドによる螢光法で測定した。

赤血球内アルギナーゼは、一般的に見て高等なもの程活性が高く、下等なもの程低いことが知られた。しかし、マカク属のブタオザルはヒト新生児に匹敵する程活性が高く、チンパンジーはヒトよりもさらに高値であった。

ヒト成人8人の平均値は、アルギナーゼ 0.715 ± 0.108 mmoles urea/g Hb/hr., 赤血球内オルニチン 1.55 mg/dl, リジン 1.77 mg/dl, アルギニン検出不能であった。チンパンジー4頭の平均値は、アルギナーゼ 1.690 ± 0.455 , オルニチン 21.02 , リジン 38.55 , アルギニンはヒト同様検出不能であった。オナガザル科は一般にヒトより低く、ニホンザル82頭のアルギナーゼは 0.188 ± 0.166 , オルニチン 0.87 , リジン 10.93 , アルギニン 15.08 であった。原猿亜目のコモンツパいの活性値は 0.041 , ワオキツネザル2頭は、 0.024 と検出不能とで、いずれも0に近かった。スローロリス、オオガラゴ、ワタボウシタマリンも活性の検出できないものが数多く発見された。

以上のことから、霊長類は進化の段階に応じて尿素サイクルの機能が変化したことが想像される。

野生ニホンザルの集団に関しては、嵐山、箕面に引続き、他の集団についても測定中である。

霊長類における s-GPT の研究

植田信太郎 (東大・理)

Glutamic-Pyruvic Transaminase (GPT) は糖代謝とアミノ酸代謝の橋渡しを行う重要なアミノ基転移酵素である。一昨年度の共同利用研究により、霊長類の赤血球 GPT 活性は種間に非常に著しい差異が存在することが判明した。すなわち、ニセザル、新世界ザルの多くはヒトよりも高い GPT 活性を示すが、低い値を示す種も存在している。一方、ヒトでは弱いながらも GPT 活性が認められるにもかかわらず、近縁種である類人猿、旧世界ザルでは活性が著しく低かった。以上の結果より、赤血球 GPT は霊長類において系統発生的に極めて特異的な分布を示すことが明らかとなった。更に、昨年度の研究から、霊長類の赤血球 GPT 活性にみられた種間変異は、酵素タンパクの turnover number などの質的な差でなく、主に赤血球中の GPT 酵素量の差によると考えら

れた。

本年度は、この量的な差の原因を検討する為に、GPT 活性に対する赤血球の aging の影響を調べた。原猿、新世界ザル、旧世界ザル、類人猿から各1種ずつを選び、遠心法により younger cells を分離し GPT 活性を測定したが、先に赤血球 GPT 活性の認められなかった旧世界ザル、類人猿では活性を検出できなかった。従って、更に幼若な赤血球である網状赤血球中の GPT 活性について検索する為に、ニホンザル4頭にフェルニールヒドラジンを投与し貧血を起こさせ、網状赤血球を得た。うち2頭は、GPT の誘導物質として知られるハイドロコチゾンも合わせて投与した。各検体とも網状赤血球数の割合は最大90%以上を示したが、その前後の経時的変化を追っても GPT 活性は全く検出することはできなかった。

従って、霊長類の赤血球 GPT 活性にみられた種間変異は、酵素タンパクの崩壊速度の変異によるものではなく、赤血球系において合成された GPT 酵素量の変異によるものと推測された。

スピラベル法による霊長類赤血球膜構造の研究

吉田政幸, 渡部徳子
中山伸一 (東大・理)

霊長類種間差異の研究における、スピラベル法の利用を検討した。昨年度はヘモグロビンに対してスピラベル法を適用し、その結果は本報第10巻においてすでに報告した。本年度は赤血球膜に対してスピラベル法を適用し、種間差異研究への可能性を検討した。

各種霊長類から得た赤血球に、脂溶性スピラベル試薬を挿入し、その運動性の温度変化に対する挙動を検討した。旧世界ザルであるニホンザル、ミドリザルは 24°C 付近で著しい変曲点があらわれるなどよく類似した温度変化のパターンを示した。新世界ザルであるクモザル、パンシエは 20°C 付近の低いところの変曲点温度はいくらか違っているが、 50°C 付近に変曲点があるなど、比較的類似した温度変化のパターンを示した。なおこれら二種のパターンは類似性がある。一方、ヒトは以上のような霊長類とは違ったパターンを示し、 30°C と 46°C 付近に変曲点があらわれた。さらに原猿類で

あるスローロリスは非常に変曲点が多く、20, 28, 34, 48℃付近に変曲点があった。

このように、赤血球膜に挿入されたスピラベル試薬の運動性の温度依存を検討すると、霊長類種間のある程度の区分が可能である事がわかった。これらの相違は、赤血球の膜組成の違いによると思われる。赤血球の膜組成は、赤血球の年齢によって変化する事が考えられ、今後はその点に関して検討する必要があると思われる。

サルの主要組織適合抗原系、及び補体成分の欠損症の研究

野口 淳夫、後藤 裕子
古川 敏紀、伊藤 清子
(筑波大学・基礎医学系)

主要組織適合抗原複合体(英名略; MHC)は、白血球抗原系、免疫応答遺伝子産物、補体成分の三種の構造遺伝子座が集積した染色体上の一領域である。霊長類におけるMHC構造を解明するため以下のような研究を行った。「白血球抗原系」ニホンザル80数頭、アカゲザル10数頭を用い、これらの末梢血リンパ球を分離し同種間で相互に免疫を行った。免疫は静注により一週間毎に4~5回行い、最終免疫一週間後より毎週4回採血し血清を分離した。第一回血清の特異性を見るため、50数頭のニホンザル、アカゲザルのリンパ球を分離し、NIH法に基づく細胞毒性テストを行った。50数種の同種抗白血球血清の反応特異性を比較するためこの結果に基づき、2×2カイ自乗検定を行い、クラスターの存否を検討した。その結果、反応特異性の類似が強く見られる四つのクラスターを得ることができた。各クラスターは最低三種の血清より成り立っており、ニホンザル等にはこれらのクラスターに対応する白血球抗原系が存在するものと推定された。これらの白血球抗原をJMLA (Japanese monkey leucocyte antigen) 1, 2, 3, 4と命名した。この4種の抗原で型判定(typing)したところ、JMLAを3種以上持っている個体や全く持たない個体も見られた。したがって今回のJMLAの四種の抗原は複数の遺伝子座産物であること、またこの四種以外にもまだ白血球抗原は存在することなどが推測された。今後さらに同種抗血清を多数作製し新しい抗原の

発見につとめると共に、家系調査などを通じてこれらの抗原の遺伝的背景を解明して行くことが必要である。「補体欠損症」数十頭のサルの新鮮血清の補体価を測定したところ宮島系統の数個体に異常な低値を認めたものの、欠損症と考えられるものは見られなかった。今後は例数を増やすと共に、特定の成分のアロタイプについて検討していく予定である。

霊長類における金属代謝に関する研究

木村 正己(労働衛生研究所)

メタロチオネインは生物の重金属毒性に対する防禦蛋白質であることが知られているが、最近必須金属である亜鉛や銅の代謝に関与している誘導蛋白質であることも指摘された。54年度には、亜鉛を投与したアカゲザルから亜鉛メタロチオネインが分離精製され、その性質が検討された。

55年度の共同研究では、銅を単回(22.5 mg CuSO₄/Kg 1回)および反復(4.5 mg CuSO₄/Kg 5回)皮下注射にて投与したアカゲザル(オスおよびメス)の臓器の金属分布を検べ、銅メタロチオネインを分離精製し、カドミウムあるいは亜鉛メタロチオネインとの性状の比較を行うことを目的とした。

4頭の銅投与アカゲザルの、肝、腎、肺、脾、脾、脳、十二指腸、骨、胆汁などの臓器に含有される銅および亜鉛の量を原子吸光法で分析した。亜鉛投与のアカゲザルの場合と同様に、未処置のサルと比べると、肝および腎に銅が多量に蓄積していた。腎皮質では、単回投与で約170 μg/g、反復投与で約50 μg/gの銅が見出され、肝では、単回投与で約130 μg/g、反復投与で約620 μg/gであった。亜鉛投与の場合と異り、単回投与では腎に、反復投与では肝に銅が多く見出される傾向があった。

銅投与サルの肝および腎にみられる亜鉛量は未処置サルと比べて必ずしも著しい増減がみられなかった。この結果は、カドミウム投与サルの肝および腎の亜鉛量がカドミウムの蓄積に順じて増加することと一致しない。銅投与サルの肝腎以外の検討された臓器では、胆汁を除いて、銅の著しい増加はなかった。

生体のカドミウム、亜鉛および銅のとり込みに